

# POTENSI *PAENIBACILLUS* SPP. SEBAGAI PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN PADA EKOSISTEM GAMBUT TROPIS

## THE POTENTIAL OF *PAENIBACILLUS* SPP. AS PLANT GROWTH PROMOTER IN TROPICAL PEAT ECOSYSTEM

\*Andri Frediansyah dan \*\*I Made Sudiana

\*UPT Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia, LIPI

\*\*Pusat Penelitian Biologi, Cibinong Science Center, LIPI

Pos-el: andri.frediansyah89@gmail.com

### ABSTRACT

*Microbial activity in soil play key important role for maintaining ecosystem health. The objective of this research was to explore the potential of bacteria isolated from Kalampangan, Central Kalimantan tropical peat soil as biofertilizer agent. We found 4 isolates have ability to produce amylase and cellulose and have nirK gene as denitrify ability. Base on the 16S rDNA analyses and morphological observation, those bacteria were identified as *Paenibacillus durum*, *Paenibacillus polymyxa*, *Paenibacillus macerans*, and *Paenibacillus azotofixans*. *P. polymyxa* also can produce plant growth hormone (indole acetic acid), *P. azotofixans* contains ow gene indicating that the strain is able to solubilize calcium as well as alluminium phosphate. All strain excepted *P. durum* was also contains NifH gene indicating that this strain is able to fix N<sub>2</sub>. With these characteristics the fourth isolates of bacteria can be used as agents of biological fertilizers for peatland.*

**Keywords:** peat, biofertilizer, cellulose, functional gene, *Paenibacillus*

### ABSTRAK

Aktivitas mikrobial tanah berperan penting dalam menjaga ekosistem tetap sehat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri yang diisolasi dari tanah gambut tropis di Kalampangan, Kalimantan Tengah, sebagai agen *biofertilizer*. Didapatkan empat jenis bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulosa dan amilase serta memiliki gen nirK sebagai penanda kemampuan denitrifikasi. Berdasarkan karakter morfologi dan analisis 16S rDNA, bakteri tersebut diidentifikasi sebagai *Paenibacillus durum*, *Paenibacillus polymyxa*, *Paenibacillus macerans*, dan *Paenibacillus azotofixans*. *P. polymyxa* juga dapat memproduksi hormon pertumbuhan tanaman (*indole acetic acid*), *P. azotofixans* memiliki gen ow yang mengindikasikan kemampuan pelarutan kalsium fosfat ataupun aluminium fosfat. Semua strain kecuali *P. durum* memiliki gen NifH yang mengindikasikan kemampuan fiksasi N<sub>2</sub>. Dengan karakteristik tersebut, keempat isolat bakteri dapat digunakan sebagai agen pupuk hayati untuk lahan gambut.

**Kata kunci:** gambut, *biofertilizer*, selulosa, gen fungsional, *Paenibacillus*

### PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi gambut sekitar 26 juta hektare dan menduduki peringkat keempat terbesar di dunia setelah Rusia, Kanada, dan Amerika Serikat.<sup>1</sup> Sebanyak 28% dari total gambut tersebut berada di Kalimantan.<sup>2</sup> Gambut merupakan akumulasi bahan organik yang belum

terdekomposisi secara sempurna akibat kondisi suatu lingkungan tertentu. Gambut di Kalimantan biasanya terbentuk di sekitar rawa karena dekomposisi organik terhambat oleh adanya *moisture* yang berlebihan. Dekomposisi bahan organik menghasilkan humus yang bersifat asam dengan pH sekitar 3,8-5,0.<sup>3</sup> Proses humifikasi melibat-

kan proses biologi melalui aktivitas mikrobia tanah. Kebanyakan lahan gambut tersebut telah mengalami eksploitasi berlebihan dan bahkan telah menjadi hutan gambut yang telantar yang memerlukan penanganan lebih lanjut.

Vegetasi khas hutan gambut di Kalimantan terdiri atas asosiasi kayu ramin (*Gonystylus spp.*) yang di dalamnya terdapat tiga lapisan tajuk.<sup>1</sup> Setiap lapisan tajuk terdiri atas berbagai spesies tumbuhan dengan karakteristik morfologi yang berbeda. Kondisi tersebut sangat memungkinkan tingginya keanekaragaman mikrobia yang mampu hidup pada substrat selulosa, hemiselulosa, lignin, ataupun amilum. Keberadaan mikrobia tanah memainkan peranan penting dalam menjaga kesehatan ekosistem melalui aktivitas hidrolisis ataupun sintesis dari suatu substansi organik. Hasil aktivitas tersebut digunakan oleh tumbuhan ataupun mikrobia lain pada suatu ekosistem sebagai sumber nutrisi.

Beberapa bakteri tanah dimasukkan sebagai golongan *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) karena dapat memacu pertumbuhan akar tanaman dengan menghasilkan beberapa enzim penting.<sup>4,5</sup> Aktivitas golongan bakteri tersebut sama pentingnya dengan simbiosis bakteri penambat nitrogen pada kacang-kacangan. *Bacillus*, *Pseudomonas*,<sup>4</sup> dan *Paenibacillus*<sup>6</sup> dilaporkan sebagai golongan *free-living* PGPR. Bakteri tersebut tersebar luas terutama di tanah. Ekskresi PGPR memberikan dampak langsung bagi pertumbuhan tanaman melalui produksi fitohormon, pelarutan fosfat anorganik, enzim hidrolisis, ataupun bahan volatil.<sup>4</sup> Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri gambut yang berpotensi sebagai agen *biofertilizer*, yang berasal dari tanah gambut Kalimantan, Kalimantan Tengah.

## METODOLOGI

### Sampling Tanah

Sampling gambut dilakukan pada bulan Oktober 2009 di kawasan hutan hujan tropis Kalimantan Tengah (L: 2°16'74"S dan 114°2'23"E, A: 53 m dpl). Gambut tersebut dikoleksi secara acak pada 20 titik dengan kedalaman kurang dari 1 m. Semua sampel tanah selanjutnya dimasukkan ke satu botol

serum steril. Perlakuan tersebut diharapkan dapat merepresentasikan kondisi umum dari tanah gambut Kalimantan Tengah dan kemungkinan besar mendapatkan banyak mikrobia. Sampel kemudian disimpan dalam *cool box* dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, LIPI. Selanjutnya sampel disimpan pada suhu -20°C.

### Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri

Sampel gambut disuspensikan pada pengenceran  $10^{-2}$  hingga  $10^{-6}$ . Isolasi bakteri dilakukan secara langsung dengan teknik *pour plate* pada medium agar dengan komposisi 5 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,5 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,2 g/L  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,01 g/L  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,5 g/L *yeast extract*; 10 g/L amilum, dan 0,8 % agar. Selanjutnya suspensi tersebut diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh lebat dan memiliki penampakan warna yang berbeda dipilih, dipurifikasi, dan dibuat stok kultur cair. Selanjutnya isolat terpilih tersebut dikarakterisasi secara morfologi<sup>7</sup> dan diidentifikasi secara molekuler dengan 16S rDNA.<sup>8</sup>

### Pengukuran Kurva Pertumbuhan

Pertumbuhan bakteri diamati dengan pengukuran absorbansi  $\lambda=600$  nm pada medium cair.<sup>9</sup> Pengamatan diawali dengan penyiapan inokulum, yaitu tiap-tiap isolat diinokulasikan ke dalam 10 ml medium cair hingga terjadi pertumbuhan yang ditandai dengan terbentuknya warna keruh pada medium pati cair. Setelah  $\text{OD}_{600}$  mencapai 0,2, tiap-tiap inokulum diambil 3 ml dan dimasukkan ke 22 ml medium cair. Kultur cair tersebut diinkubasi di atas *shaker* (120 rpm, suhu kamar). Pertumbuhan bakteri dipantau dengan mengukur kekeruhan dengan spektrofotometer (*thermo spectronic genesys 20*) tiap jam selama 12 jam.

### Pengukuran Fluktuasi pH pada Medium

Perubahan pH dipantau selama 21 hari dengan pH meter (*Fisher Sci. Accumant Basic AB 15*, Kanada) untuk mengetahui pH optimum keempat isolat terpilih.

### Pengukuran Aktivitas Amilase dan Selulosa

Sebanyak 1 ml kultur cair isolat bakteri dimasukkan ke tabung mikro 2 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama lima menit pada suhu 4°C. Kemudian sebanyak 0,5 ml supernatan dicampur dengan 0,5 ml substrat berupa amilum untuk pengujian amilase dan *carboxymethyl cellulose* (CMC) untuk pengujian selulosa, kemudian diinkubasi selama 60 menit pada suhu 30°C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 0,5 ml asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS) kemudian divortex (SIBATA TTM 1-Taitoku, Tokyo) dan dipanaskan dalam air mendidih selama lima menit.<sup>10</sup> Selanjutnya didinginkan dan diukur absorbansinya pada  $\lambda=550$  nm. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna kuning menjadi merah. Blanko diperlakukan sama dengan sampel tetapi penambahan enzim dilakukan setelah campuran dipanaskan. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan sebanyak dua kali dan diamati tiap hari selama 16 hari. Satu unit aktivitas amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepas 1  $\mu$ mol gula pereduksi per menit.

### Produksi Hormon IAA

Sebanyak 1,5 ml suspensi bakteri umur 48 jam dari medium pertumbuhan direaksikan dengan 1 ml reagen Salkowski dan didiamkan selama 30 menit. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah muda. Hasil positif kemudian diukur secara spektrofotometri pada  $\lambda=530$  nm.<sup>11</sup>

### Deteksi Gen Fungsional

Analisis gen fungsional pada isolat terpilih dengan *real-time* PCR (*Takara Thermal Cycler*, Shiga) berdasarkan metode Otsuka.<sup>12</sup> Analisis meliputi gen pengkode kemampuan denitrifikasi (*nirK*),

nitrifikasi (*Nir*), pelarutan fosfat (*ow*), dan fiksasi nitrogen (*nifH*).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan Karakterisasi Isolat Amilolitik

Dari hasil seleksi tanah gambut tipe fibrik<sup>13</sup> didapatkan 15 isolat bakteri. Empat isolat yang tumbuh lebat dan memiliki kenampakan warna yang hampir berbeda selanjutnya dikarakterisasi dan diidentifikasi secara molekuler dengan 16S rDNA berdasarkan Tabel 2.

Dari Tabel 1 dan Gambar 1 dijelaskan bahwa keempat isolat yang didapatkan memiliki ciri-ciri morfologi dan kemampuan tumbuh pada medium yang hampir sama. Letak perbedaan yang paling mencolok adalah pada ukuran sel. Setelah dilakukan pengecekan dengan rangkaian 16S rDNA ternyata semua isolat tersebut merupakan satu genus yang sama, yaitu *Paenibacillus*. Pada mikroskop fluoresen dengan *green fluorescence protein* (GFP), *Paenibacillus* tampak berbentuk batang dengan jelas.<sup>6</sup> Genus ini dapat ditemukan pada lingkungan ekstrem seperti tanah asam.<sup>14</sup> Lendir yang dihasilkan pada koloni merupakan salah satu cara agar dapat bertahan terhadap kondisi lingkungan melalui pembentukan biofilm.<sup>6</sup>

### Kurva Pertumbuhan, Fluktuasi pH, dan Aktivitas Amilase dan Selulosa

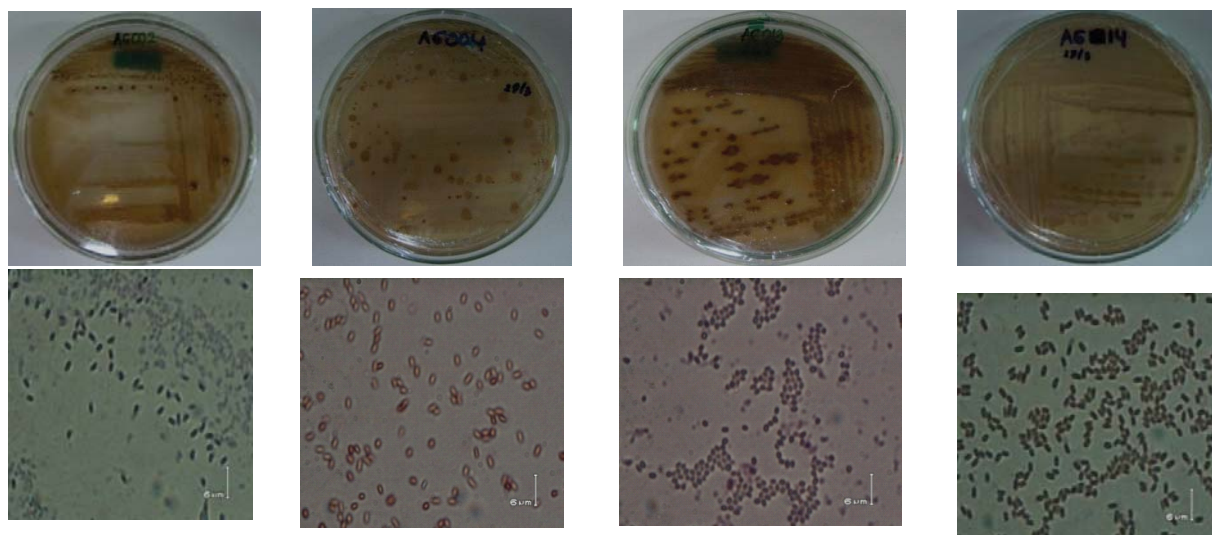
Semua bakteri uji tidak perlu beradaptasi lama dengan medium. Kecepatan pertumbuhan keempat isolat bakteri tersebut hampir sama. Berturut-turut kecepatan rerata tumbuh (k) isolat *P. durum*, *P. polymyxa*, *P. macerans*, dan *P. azotofixans* yaitu 0,242; 0,282; 0,284; dan 0,279.

**Tabel 1.** Sekuen Primer Gen Fungsional

No.	Primer	Sekuen	Gen	Referensi
1	NirK1F	GG(A/C)ATGGT(G/T)CC(C/G)TGGCA	Denitrifikasi	Braker <i>et. al.</i> , 1998 <sup>29</sup>
	NirK3R	GAACCTGCCGGT(A/C/G)G(C/T)CCAGAC		
2	Nit A	5'CTTAAGTGGGGAATAACGCATCG'3	Nitrifikasi	Otsuka, <i>et. al.</i> , 2007 <sup>12</sup>
	Nit B	5'TTACGTGTGAAGCCCTACCCA'3		
3	nifHf	5'GGCAAGGGCGGTATCGGCAAGTC'3	Fiksasi N <sub>2</sub>	Otsuka, <i>et. al.</i> , 2007 <sup>12</sup>
	nifHr	5'CCATCGTGATCGGGTCGGGATG'3		

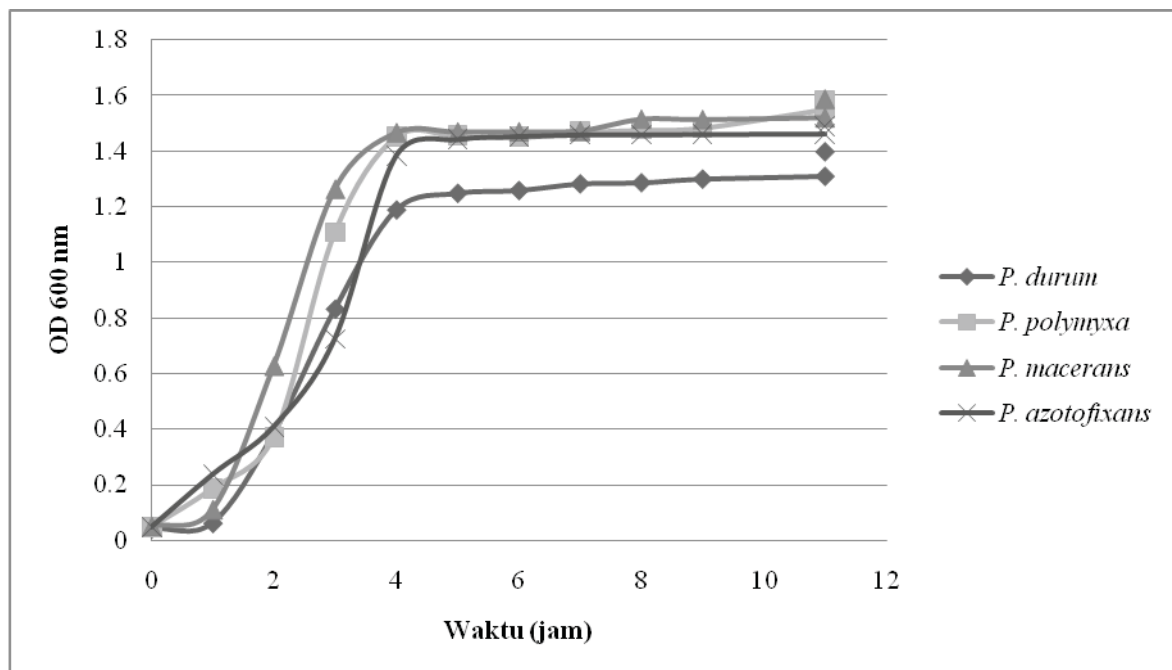
**Tabel 2.** Karakteristik Morfologi empat Isolat Bakteri Terpilih

Karakteristik	Isolat Bakteri			
	AG002	AG004	AG013	AG014
Warna koloni	cokelat tua	cokelat muda	cokelat tua	cokelat muda
Bentuk koloni	bundar	bundar tak teratur	bundar	bundar
Ukuran koloni	kecil	besar	besar	sedang
Permukaan koloni	berlendir licin	berlendir kasar	berlendir kasar	berlendir kasar
Elevasi	cembung	datar	datar	datar
Bentuk tepi	penuh	tak beraturan	berombak-ombak	berombak-ombak
Pigmentasi	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
Struktur dalam	buram	buram	buram	buram
Pengecatan gram	positif	negatif	positif	positif
Banyaknya sel	sedikit	sedang	sedang	sedikit
Bentuk sel	batang	batang	kokus	batang
Ukuran sel	0,5-1 $\mu\text{m}$	1-3 $\mu\text{m}$	<1 $\mu\text{m}$	0,5-1,5 $\mu\text{m}$
Medium miring	banyak	banyak	banyak	banyak
Medium miring	banyak	banyak	banyak	banyak
Medium tegak	tumbuh baik di permukaan, rhizoid	tumbuh baik di permukaan, rhizoid	tumbuh baik di permukaan, rhizoid	tumbuh baik di permukaan, rhizoid
Medium cair	rata di semua medium	rata di semua medium	rata di semua medium	rata di semua medium
Nama isolat (16S rDNA )	<i>Paenibacillus durum</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	<i>Paenibacillus macerans</i>	<i>Paenibacillus azotofixans</i>

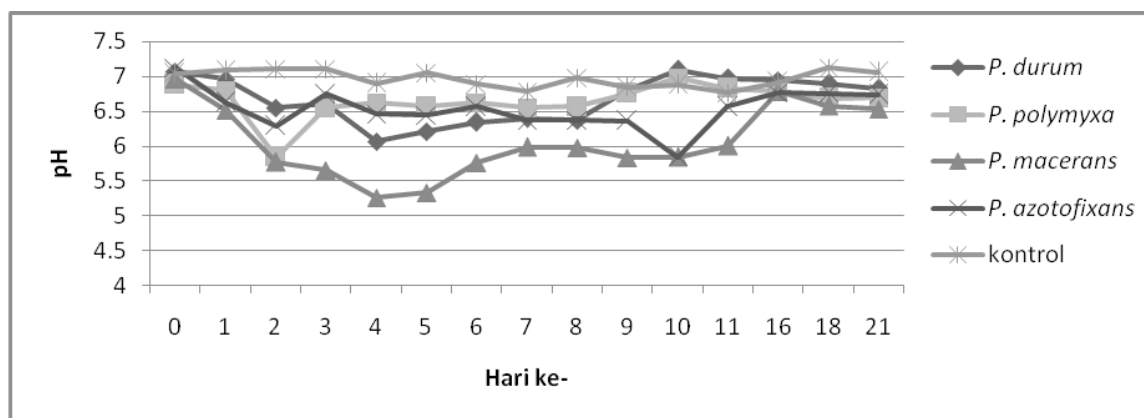


**Gambar 1.** Pertumbuhan empat isolat bakteri pada *plate agar* (atas) dan pengamatan bentuk sel dengan pewarnaan gram (bawah). Berturut-turut dari kiri ke kanan adalah isolat *P. durum*, *P. polymyxa*, *P. macerans*, dan *P. azotofixans*.

Setelah lima jam, semua bakteri memasuki fase *stationer*.



**Gambar 2.** Kurva pertumbuhan isolat bakteri terpilih.



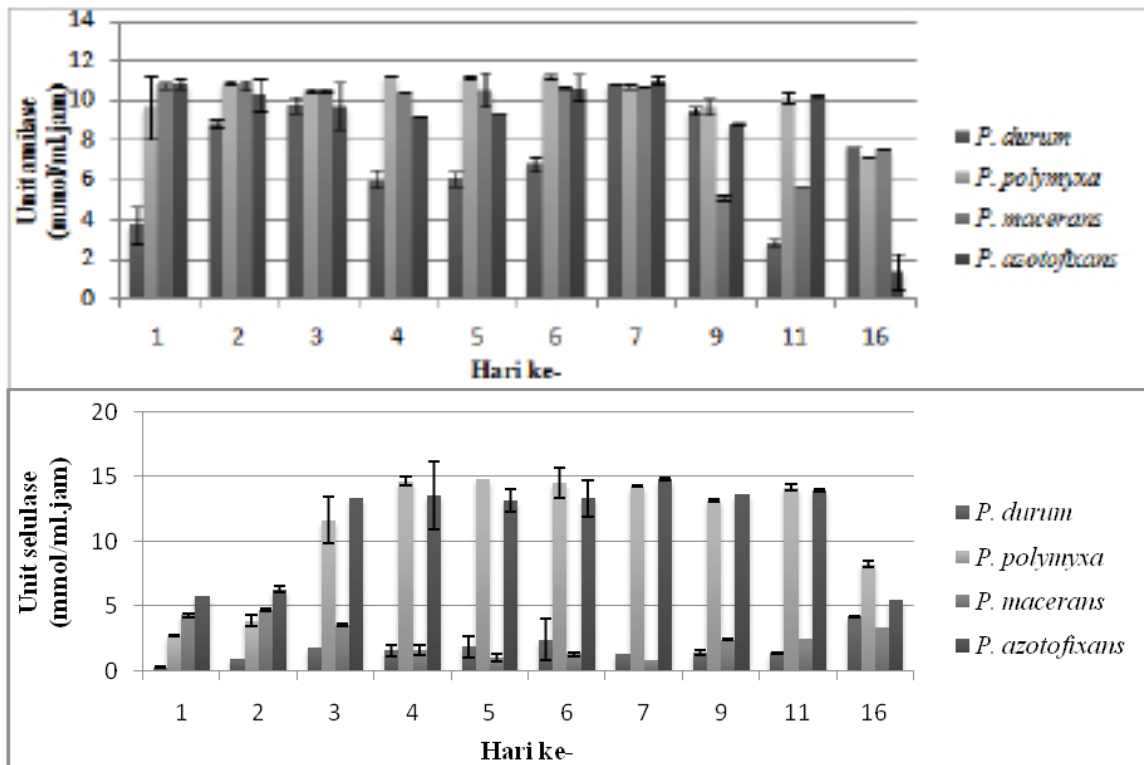
**Gambar 3.** Fluktuasi pH pada medium pertumbuhan keempat isolat bakteri.

Dari Gambar 3 terlihat bahwa pertumbuhan bakteri gambut (pH 4,4) pada medium cair mengalami fluktuasi pH 5,5-7,5. Nilai pH tersebut sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim terutama dengan fungsi sisi aktif enzim dan kelarutan substrat. Kisaran pH yang terjadi mirip dengan penelitian Delavat *et al.*,<sup>14</sup> *Paenibacillus* yang telah diisolasi dari lingkungan asam (pH 2,7-3,4) menunjukkan fluktuasi pH pada medium antara 5 dan 8. Ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bukanlah bakteri asam tetapi hanya terhambat oleh kondisi lingkungan. Bakteri tersebut memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi dan resisten terhadap stres lingkungan. pH dapat menyebabkan perubahan daerah katalitik ataupun

konformasi suatu enzim karena gugus amino dan karboksil dipengaruhi oleh pH.

Bakteri mampu menghasilkan enzim amilase<sup>3,15</sup> dalam bentuk  $\alpha$  ataupun  $\beta$ .<sup>15</sup> Enzim tersebut dapat ditemukan pada bakteri asidofilik, alkalifilik, dan termoasidofilik.<sup>15</sup> Amilase berfungsi memecah pati pada sisa tumbuhan menjadi gula sederhana.<sup>16</sup> Dari Gambar 3 dan 4 terlihat bahwa aktivitas enzim amilase tertinggi terjadi pada hari ke-7 dengan pH sekitar 6,5. Hal ini mengindikasikan bahwa pH optimum kerja enzim tersebut adalah 6,5. Kisaran pH optimum amilase bakteri, yaitu 5-6. *Bacillus licheniformis* dilaporkan memiliki aktivitas optimum amilase pada pH 6-7.<sup>16</sup> Peningkatan atau penurunan dari





**Gambar 4.** Aktivitas amilase (atas) dan selulosa (bawah) pada keempat isolat bakteri.

pH optimum menyebabkan penurunan aktivitas enzim dan katalitik enzim akibat struktur enzim tidak sesuai lagi dengan molekul substrat. pH sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim dalam menghasilkan gula reduksi.

Dari Gambar 4 juga terlihat pula bahwa isolat *P. polymyxa*, *P. macerans*, dan *P. azotofixans* memiliki aktivitas pemecahan amilum yang cukup tinggi. Kemampuan pemecahan amilum menjadi gula reduksi oleh ketiga bakteri sekitar 8-11 unit. Di sisi lain, isolat *P. durum* memiliki aktivitas amilase yang paling rendah daripada yang lainnya. Hal ini disebabkan isolat ini perlu waktu adaptasi terhadap medium lebih lama terbukti dari naik turunnya aktivitas enzim selama kurun 16 hari. Data tersebut menunjukkan bahwa semua bakteri memiliki kemampuan memecah amilum cukup tinggi yang ditunjukkan dengan pelepasan gula reduksi yang meningkat sampai waktu tertentu. Aktivitas degradatif tersebut menggambarkan aktivitas enzim dengan bentuk lonceng.<sup>17</sup>

CMC-ase merupakan enzim selulosa yang memecah ikatan  $\beta$ -1,4. Degradasi selulosa cukup sulit dilakukan di alam karena secara alamiah selulosa tidak larut dalam air.<sup>18</sup> Dari uji CMC-ase

pada keempat isolat *Paenibacillus* diperoleh hasil bahwa isolat *P. polymyxa* dan *P. azotofixans* memiliki aktivitas enzim CMC-ase yang lebih tinggi daripada yang lain. Aktivitas enzimatis keduanya sekitar 12-15 unit. Kemampuan bakteri menghasilkan CMC-ase ini dipengaruhi oleh medium. Medium pertumbuhan dengan amilum memengaruhi aktivitas enzim karena bakteri terbiasa memecah substrat yang tidak terlalu sulit. Ketika bakteri mampu melakukan aktivitas secara optimum pada substrat yang tergolong sedang, bakteri tersebut kemungkinan memiliki aktivitas yang lebih tinggi saat berada pada substrat yang sulit dipecah seperti selulosa. Hal ini dibuktikan pada isolat *P. durum*, isolat ini memiliki aktivitas yang cukup rendah pada medium amilum sehingga ketika berada pada medium selulosa aktivitasnya juga rendah.

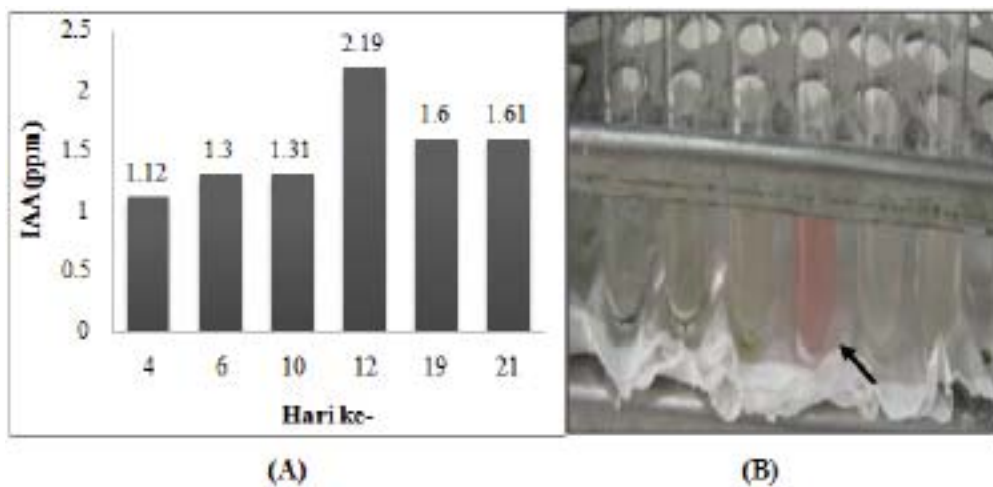
### Produksi Hormon IAA

IAA merupakan hormon auksin endogen yang disintesis oleh akar dan batang tumbuhan. Beberapa mikrobia dilaporkan mampu memproduksi IAA.<sup>11</sup> Mikrobia bergabung secara fisiologis pada tumbuhan dan memasukkan IAA melalui

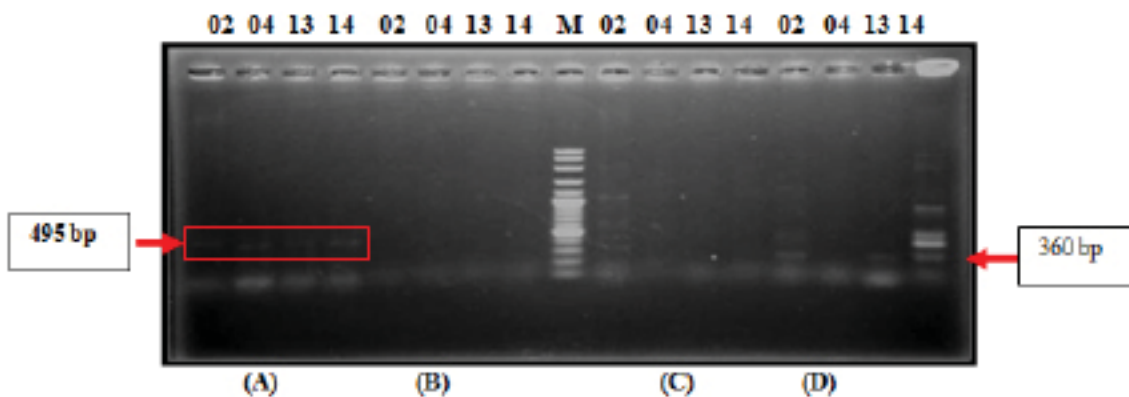
akar sehingga tumbuhan lebih sensitif dalam mengubah konsentrasi IAA yang dimilikinya untuk memacu pembentukan akar dan elongasi batang.<sup>11,19</sup>

Dari Gambar 5 diketahui hanya *P. polymyxa* yang mampu memproduksi IAA. Isolat lain menggunakan nutrisi pada medium hanya untuk meningkatkan biomassa sel. Hal ini dibuktikan dengan terjadinya warna keruh pada tabung yang dibandingkan dengan kontrol. Aktivitas produksi IAA paling tinggi terjadi pada hari ke-12 dengan konsentrasi IAA 2.19 ppm dengan pemberian 0.204 g/L atau 1 mM Triptofan (Mr 203). Konsentrasi IAA yang dihasilkan cukup tinggi.

Dengan metode yang sama, isolat bakteri tanah seperti *Pseudomonas fluorescens*, *P. aureofaciens*, dan *P. paucimobilis* menghasilkan IAA sekitar 0.38–0.60 ppm.<sup>11</sup> Hasil yang diperoleh juga tidak jauh berbeda dengan penelitian Susilawati *et al.*,<sup>20</sup> penambahan triptofan sebanyak 5 mM dengan waktu inkubasi 5–7 hari menghasilkan IAA sebesar 8.295 ppm. Pemberian konsentrasi triptofan ke medium pertumbuhan bakteri berpengaruh terhadap jumlah produksi IAA. Semakin tinggi konsentrasi triptofan yang diberikan, produksi IAA juga akan semakin tinggi.<sup>21</sup> Triptofan merupakan prekursor fisiologis biosintesis auksin bagi tumbuhan ataupun mikrobia.<sup>22</sup>



**Gambar 5.** Produksi hormon IAA pada *Paenibacillus polymyxa* (A) dan kenampakan kultur yang menghasilkan IAA (B).



**Gambar 6.** Hasil PCR DNA bakteri dengan gen *nirK* (A), *Nit* (B), *ow* (C), dan *nifH* (D).

## Deteksi Gen Fungsional

Deteksi gen fungsional tersebut digunakan untuk menganalisis diversitas genetik isolat *Paenibacillus* pada ekosistem gambut. Dari Gambar 6 diketahui bahwa Gen *nirK* dimiliki oleh semua bakteri yang diuji. Produk PCR gen *nirK* terlihat pada 392 bp.<sup>29</sup> Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat tersebut memiliki kemampuan denitrifikasi.<sup>29</sup> Semua bakteri yang didapatkan tidak memiliki kemampuan nitrifikasi dengan tidak adanya *band* untuk gen *Nit* di bawah UV. Gen tersebut biasanya dimiliki golongan beta pada kelas *proteobacteria* seperti *Nitrosomonas* dengan produk PCR 1080 bp.<sup>30</sup> Bakteri *P. durum* memiliki kemampuan melarutkan fosfat, dari gambar terlihat bahwa terbentuk *band* pada gen *ow*. Fosfor merupakan mineral terbatas pada tanah di samping nitrogen yang berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Tanaman menggunakan fosfor dalam bentuk anion fosfat. Akan tetapi, anion fosfat yang bergabung dengan kation berupa  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , dan  $\text{Al}^{3+}$  sulit dilarutkan sehingga tidak dapat digunakan oleh tanaman. Unsur P dalam tanah umumnya berikatan dengan kalsium ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) pada suasana basa dan Fe atau Al pada suasana asam seperti gambut.<sup>23,24</sup>

Dari gambar juga diketahui bahwa semua isolat memiliki gen *nifH* kecuali pada *P. polymyxa* dan mendukung pernyataan Ash *et al.*,<sup>25</sup> yang menyebutkan bahwa secara umum genus *Paenibacillus* memiliki kemampuan fiksasi nitrogen. Produk PCR gen *nifH* terlihat pada 360 bp<sup>26</sup> sedangkan Ben-Porath dan Zehr mendapatkan gen *nifH* cyanobacteria pada 359 bp.<sup>27</sup> Pada penelitian ini terlihat bahwa *P. azotofixans* memiliki gen *nifH* dengan jumlah *band* lebih dari satu dan sesuai dengan penelitian Rosado *et al.*,<sup>28</sup> yang menunjukkan adanya pola divergen atau variasi homologi gen *nifH*. Gen *nifH* *P. azotofixans* dikelompokkan menjadi 2 tipe, yaitu tipe I yang mirip dengan gen *anf* dan tipe II yang sama dengan *nifH* pada genus *Paenibacillus* lainnya.<sup>28</sup>

## KESIMPULAN

Keempat isolat bakteri *Paenibacillus* dapat digunakan sebagai agen *biofertilizer* untuk lahan gambut dalam bentuk konsorsium. Konsorsium tersebut memiliki kemampuan dalam menghasil-

kan enzim amilase dan selulosa; hormon IAA; dan kemampuan melakukan denitrifikasi, fiksasi nitrogen, dan pelarutan fosfat.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala dan Staf Laboratorium Ekologi Mikrobial, Pusat Penelitian Biologi, LIPI.

## DAFTAR PUSTAKA

- <sup>1</sup>Budianta, D. 2008. *Strategi Pemanfaatan Hutan Gambut yang Berwawasan Lingkungan*. Wetlands International: Climate Change, Forests, and Peatlands in Indonesia. 158–160.
- <sup>2</sup>Anonim, 2008. Laporan Tahunan 2008: *Konsorsium Penelitian dan Pengembangan Perumahan Iklim pada Sektor Pertanian*. Balai Besar penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian (BB Litbang SDLP), Bogor.
- <sup>3</sup>Kathiresan, K. and S. Manivannan. 2006.  $\alpha$ -amilase Production by *Penicillium fellutanum* Isolated from Mangrove Rhizospheric Soil. *Afr. J. Biotechnol.* 5: 829–832.
- <sup>4</sup>Podile, A.R. and G.K. Kishore. 2007. *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*. In Gnanamanickam, S.S. (Ed). *Plant Associated Bacteria*. Springer.
- <sup>5</sup>Timmusk, S. and E.G.H. Wagner. 1999. The Plant-Growth-Promoting Rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* Induces Changes in Arabidopsis thaliana Gene Expression: A Possible Connection Between Biotic and Abiotic Stress Responses. *The American Phytopathological Society*. 12 (11): 951–959.
- <sup>6</sup>Timmusk, S., N. Grantcharov, E.G.H. Wagner. 2005. *Paenibacillus polymyxa* Invades Plant Roots and Forms Biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(11): 7.929–7.300.
- <sup>7</sup>Atlas, R.M., A.E. Brown, K.W. Dobra, and L. Miller. 1984. *Experimental Microbiology Fundamentals and Application*. New York: Macmillan Publishing Company
- <sup>8</sup>Drancourt, M., C. Bollet, A. Carlioz, R. Martelin, J. Gayral, and D. Raoult. 2000. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. *Journal Clinical of Microbiology*. 38(10): 3.623–3.639.
- <sup>9</sup>Soetarto, E.S., T.T. Suharni, S.Y. Nasititi, dan L. Sembiring. 2001. *Mikrobiologi II*. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. hlm.14–17.



- <sup>10</sup>Bernfeld, P. 1955. Amylases  $\alpha$ - and  $\beta$ - di dalam Colowick S.P., Kaplan N.O. (Eds). Methods In Enzymology. New York: Academic Press. 149–150.
- <sup>11</sup>Sarwar, M. and R.J. Kremer. 1995. Determination of Bacterially Derived Auxins Using a Microplate Method. *Letter in Applied Microbiology*. 20: 282–285.
- <sup>12</sup>Otsuka, S., I.M. Sudiana, K. Komori, K. Isobe, S. Deguchi, M. Nishiyama, H. Shimizu, and K. Senoo. 2007. Community Structure of Soil Bacteria in a Tropical Rainforest Several Years After Fire. *Microbes and Environment*. 23: 49–56.
- <sup>13</sup>Agus, F. dan I.G.M. Subiksa. 2008. Lahan Gambut: Potensi untuk Pertanian dan Aspek Lingkungan. Bogor: Balai Penelitian Tanah dan Word Agroforestry Center. 3–41.
- <sup>14</sup>Delavat, F., V. Philip, A. Foster, M. Let, and D. Lièvre-mont. 2012. Deciphering the Role of *Paenibacillus* Strain Q8 in the Organic Matter Recycling in the Acid Mine Drainage of Carnoules. *Microbial Cell Factoris*. 11 (6): 1–10.
- <sup>15</sup>Boyer, E.W. and M.B. Ingle. 1972. Extracellular Alkaline Amylase from *Bacillus sp.* *J. Bacteriol*. 110: 992–1.000.
- <sup>16</sup>Marounek, M. and S. Bartos. 1986. Stoichiometry of Glucose and Starch Splitting by Strain of Amylolytic Bacteria from Rumen and Anaerobic Digester. *Journal of Applied Bacteriology*. 61: 81–86.
- <sup>16</sup>Tigue, M.A.Mc., C.T. Kelly, E.M. Doyle, and W.M. Fogarty. 1995. The Alkaline Amylase of the Alkalophilic *Bacillus sp.* IMD 370. *Enzym. Microbial Technol.* 17: 570–573.
- <sup>17</sup>Price, N.C. and L. Steven. 1984. Fundamental of Enzymology. New York: Oxford University Press. 116–150.
- <sup>18</sup>Deng, S.P. and M.A. Tabatai. 1994. Cellulase activity of soil. *Journal Soil Biology and Biochemistry. Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 26: 1.347–1.354.
- <sup>19</sup>Tien, T.M., M.H. Gaskins, and D.H. Hubbell. 1979. Plant Growth Substances Produced by *Azospirillum brasilense* and Their Effect on The Growth of Pear Millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*. 37: 1.016–1.024.
- <sup>20</sup>Susilawati, D.N., R. Saraswati, and E. Yuniarta. 2003. *Isolasi dan Seleksi Mikrobial Diazotrof Endofitik dan Penghasil Zat Pemacu Tumbuh pada Tanaman Padi dan Jagung*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Genetik Pertanian, 128–143.
- <sup>21</sup>Patten, C.L. and B.R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indole Acetic Acid in Development of the Host Plant Root System. *Microbes Environ.* 68: 3.795–3.801.
- <sup>22</sup>Tarabily, K., H. Nassar, and K. Sivasithamparam. 2003. *Promotion of plant growth by an auxin-producing isolate of the yeast Williopsis saturnus endophytic in maize roots*. The Sixth U.A.E. University Research Conference, 60–69.
- <sup>23</sup>Song, Ok. R., S.J. Lee, Y.S. Lee, S.C. Lee, K.K. Kim, and, Y.L. Choi. 2008. Solubilization of Insoluble Inorganic Phosphate by *Burkholderia cepacia* DA23 Isolate from Cultivated Soil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 39: 151–156.
- <sup>24</sup>Sulasih dan Rahmat. 2007. Aktivitas Fosfatase dan Pelarutan Kalsium Fosfat oleh Beberapa Bakteri Pelarut Fosfat. *Biodiversitas*. 8: 23–26.
- <sup>25</sup>Ash, C., F.G. Priest, and M.D. Collins. 1993. Molecular Identification of rRNA Group 3 Bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks, and Collins) Using a PCR Probe Test. *PropoSal for the Creation of a New Genus Paenibacillus. Antonie Leeuwenhoek* 64: 253–260.
- <sup>26</sup>Auman, A.J., C.C. Speake, and M.E. Lidstrom. 2001. *nifH* Sequence and Nitrogen Fixation in Type I and Type II Metanotrophs. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 4.009–4.016.
- <sup>27</sup>Ben-Porath, J. dan J.P. Zehr. 1994. Detection and Characterization of Cyanobacterial *nifH* genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 880–887.
- <sup>28</sup>Rosado, A.S., G.F. Duarte, L.Seldin, J.D.V. Elsas. 1998. Genetic Diversity of *nifH* Gene Sequences in *Paenibacillus azotofixanz* Strains and Soil Sample Analyzed by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis of PCR-Amplified Gene Fragment. *App. Environ. Microbiol.* 64(08): 2.770–2.779.
- <sup>29</sup>Braker, G., A. Fesefeldt, and K. Witzel. 1998. Development of PCR Primer Systems for Amplification of Nitrite Reductase Genes (*nirK* and *nirS*) to Detect Denitrifying Bacteria in Environmental Samples. *App. Environ. Microbiol.* 64(10): 3.769–3.775.
- <sup>30</sup>Voytek, M.A. and B.B. Ward. 1995. Detection of Ammonium-Oxidizing Bacteria of the Beta-Subclass of the Class *Proteobacteria* in Aquatic Samples with the PCR. *App. Environ. Microbiol.* 61(4): 1.444–1.450.

